

Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор¹
Струк М.С., старший научный сотрудник²

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА НА ИММУНИТЕТ И ОБМЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Резюме

Дана оценка распространения вирусных респираторных болезней и пневмоэнтеритов телят. Описаны результаты влияния препарата на основе наночастиц цинка на иммунную систему и обменные процессы.

Ключевые слова: наночастицы, цинк, ветеринарный препарат, вирус инфекционного ринотрахеита, вирусная диарея, парагрипп-3, молодняк крупного рогатого скота, иммунитет, метаболизм.

Summary

The spread of viral respiratory diseases and pneumoenteritis of calves is assessed. The results of the effect of the preparation based on zinc nanoparticles on the immune system and metabolic processes are described.

Keywords: nanoparticles, zinc, veterinary drug, infectious rhinotracheitis virus, viral diarrhea, parainfluenza-3, young cattle, immunity, metabolism.

Поступила в редакцию 11.11.2024 г.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные респираторные инфекции – инфекционный ринотрахеит (ИРТ), вирусная диарея (ВД), парагрипп-3 (ПГ-3) – остаются наиболее распространенными патологиями молодняка крупного рогатого скота (КРС), имеющими в промышленном скотоводстве тенденцию роста [1]. Характерным для этих инфекций является развитие вторичных иммунодефицитов, сопровождающихся снижением количества Т- и В-лимфоцитов и уменьшением функциональной активности фагоцитирующих клеток [2]. В ветеринарной медицине для профилактики и лечения подобных состояний используют вещества различного происхождения, но, с одной стороны, их эффективность или невысокая, или они оказывают слишком интенсивное действие, в конечном итоге приводящее к иммунодепрессии [3]. Известно, что некоторые микроэлементы, в частности цинк, обладают иммуномодулирующим действием [3, 4]. Этот уникальный микроэлемент способен влиять на все звенья врожденного и приобретенного иммунитета и играет важную роль в поддержании иммунного гомеостаза организма [5, 6].

Целью наших исследований являлось изучение влияния препарата на основе наночастиц цинка на гематологические и биохимические показатели, а также показатели обмена веществ при его применении в комплексной терапии вирусных респираторных инфекций телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для диагностики вирусных инфекций молодняка КРС применяли ретроспективные серологические исследования с использованием парных сывороток крови. Результаты оценивали по сероконверсии антител.

Для изучения клеточного и гуморального иммунитета использовали метод дифференциального центрифугирования в градиенте различной плотности, для идентификации Т-лимфоцитов – метод розеткообразования. Фагоцитарную активность лимфоцитов и фагоцитарное число определяли методом, основанным на явлении фагоцитоза, – реакции организма, проявляющейся в способности клеток-фагоцитов захватывать и переваривать чужеродные микроорганизмы [6]. Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по не-

фелометрическому методу Дорофейчука (1968) [7], бактерицидную активность сыворотки крови – по методу Смирновой и Кузьминой [8].

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе.

Для определения иммуностимулирующего эффекта образца препарата на основе наночастиц цинка на иммунную систему животных был выбран метод определения фагоцитарной активности лейкоцитов. В качестве подопытных животных были использованы кролики. Было сформировано 3 группы животных ($n=3$). Кроликам опытной группы (ОГ) № 1 вводили наночастицы цинка в разведении 1:5 (50,0 мкг/мл), опытной группы № 2 – наночастицы цинка в разведении 1:10 (100,0 мкг/мл), а животным контрольной группы (КГ) – изотонический раствор натрия хлорида. Испытуемые образцы препарата на основе наночастиц цинка вводили в дозе 1,0 см³ внутримышечно. Кровь отбирали через 48 ч из ушной вены.

Изучение влияния образца препарата на основе наночастиц цинка на иммунный ответ животных проводили на морских свинках. Для этого сформировали 7 групп животных по 4 головы в каждой. Опытной группе № 1 вводили вирус ИРТ с титром 6,5 lg ТЦД 50/мл и образец препарата в концентрации 50,0 мкг/мл двукратно с интервалом 14 дней. Опытной группе № 2 вводили вирус ИРТ и образец препарата в концентрации 100,0 мкг/мл двукратно с интервалом 14 дней. Опытной группе № 3 вводили вирус ИРТ с изотоническим раствором натрия хлорида двукратно с интервалом 14 дней. Опытной группе № 4 вводили вирус диареи с титром 7,0 lg ТЦД 50/мл и образец препарата в концентрации 50,0 мкг/мл двукратно с интервалом 14 дней. Опытной группе № 5 вводили вирус ВД и образец препарата в концентрации 100,0 мкг/мл двукратно с интервалом 14 дней. Опытной группе № 6 вводили вирус ВД с физиологический раствором двукратно с интервалом 14 дней. Контрольная группа животных обработкам не подвергалась. Оценку иммуностимулирующего действия образца препарата на основе наночастиц цинка проводили по состоянию поствакцинального иммунитета против ИРТ и ВД.

Влияние препарата на основе наночастиц цинка на гематологические и биохимические показатели крови телят исследовали в условиях животноводческих хозяйств Республики Беларусь. Для этого были сформированы 2 группы животных в возрасте от 35 до 40 дней по 10 голов в каждой с клиническим проявлением вирусных респираторных инфекций, что подтверждено лабораторными исследованиями. Телятам опытной группы вводили препарат в дозе 5,0 см³ при концентрации цинка 50,0 мкг/мл трехкратно 1 раз в день в течение 3 дней, телятам контрольной группы – химиотерапевтические и симптоматические средства, применяемые в хозяйстве. Кровь брали до обработки, через 7 и 14 дней после первого введения препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе мониторинга эпизоотической ситуации в неблагополучных по вирусным респираторным инфекциям хозяйствах установлено, что наиболее восприимчивыми являются телята, возраст которых не превышает 30–45 дней. Основным источником возбудителя болезни являются больные и переболевшие животные. Одним из предрасполагающих факторов к появлению данных заболеваний является нарушение требований к условиям содержания и кормления животных, что приводит к снижению общей резистентности организма. По нашим данным, непродуцибельное выбытие от количества заболевших животных достигает от 15 до 30 %. При этом вирусные респираторные болезни у телят регистрируются, как правило, стационарно и не имеют выраженной сезонности. Также было исследовано 130 парных сывороток крови невакцинированных больных и переболевших респираторными болезнями телят 1–4-месячного возраста из 16 хозяйств и 160 парных сывороток крови клинически здоровых животных (таблица 1).

Результаты, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о том, что в этиологии вирусных респираторных инфекций телят существенную роль играют вирусы ИРТ, ВД и ПГ-3 КРС. При этом наиболее частой причиной развития респираторной патологии выступает вирус ПГ-3 (87,7 %), затем –

вирус ИРТ (61,5 %) и ВД (49,2 %). Однако сероконверсия отмечена и у части клинически здоровых телят (соответственно, 22,5 %, 15 % и 10 %), что свидетельствовало о бессимптомном течении болезни.

Известно, что при респираторных инфекциях телят ведущая роль в этиологии отведена вирусам. При этом вирусы репродуцируются в чувствительных эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей и поражают их, угнетают им-

мунную систему и нарушают обменные процессы.

Для оценки состояния иммунитета и обменных процессов организма телят при вирусных респираторных инфекциях нами было сформировано 2 группы животных в возрасте 1–4 месяцев по 10 голов в каждой: опытная группа – телята, больные респираторными заболеваниями, контрольная группа – клинические здоровые телята.

Таблица 1 – Результаты сероконверсии антител у телят к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 при ретроспективном анализе парных проб сывороток крови

Клинический статус телят	Кол-во исследованных парных проб/ количество животных	Выявлено проб с сероконверсией/процент		
		ИРТ	ВД	ПГ-3
Больные вирусными респираторными заболеваниями	130/65	40/61,5	32/49,2	57/87,7
Клинически здоровые	160/80	8/10	12/15	18/22,5

Результаты проведенных исследований (таблица 2) свидетельствуют о снижении показателей специфического и неспецифического иммунитета: Т-лимфоцитов – на 34,5 %, В-лимфоцитов – на 25,4 %, фа-

гоцитарной активности – на 43,81 %, фагоцитарного числа – в 2,11 раза, лизоцимной активности – в 3,85 раза, а бактерицидной активности – на 43,7 % по сравнению со здоровыми телятами.

Таблица 2 – Показатели клеточного и гуморального иммунитета у телят различного клинического состояния при респираторных инфекциях

Показатели	Больные телята	Клинически здоровые телята
Лимфоциты, %	46,60±1,49	65,70±1,79
Т-лимфоциты, %	24,30±1,32	37,10±1,02
В-лимфоциты, %	14,10±0,78	18,90±0,87
Фагоцитарная активность, %	39,50±2,41	70,30±3,35
Фагоцитарное число	2,36±0,22	5,00±0,17
Лизоцимная активность сыворотки крови, мкг/мл	0,75±0,13	2,89±0,19
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	38,30±4,50	68,10±2,77
Общий белок, г/л	57,12±2,59	76,13±6,13
Альбумин, г/л	35,08±1,85	40,12±2,38
Глобулины, г/л	21,89±4,48	36,84±7,39
А/Г-соотношение	1,55±0,14	1,22±0,07

Анализ данных, полученных при оценке неспецифического гуморального звена иммунитета, показал, что у больных вирусными респираторными инфекциями телят отмечается снижение концентрации общего белка на 24,97 %, альбуминов сыворотки крови – на 12,56 %, иммуноглобулинов – на 40,58 %, что свидетельствует о значительных изменениях в иммунной системе.

Наряду с угнетением факторов иммунитета, у телят были отмечены нарушения и со стороны метаболических процессов (таблица 3).

Приведенные в таблице 3 данные показывают, что при вирусных респираторных инфекциях у телят отмечаются существенные нарушения в содержании низкомолекулярных азотистых веществ (мочевины, креатинина), а именно их увеличе-

ние, что может свидетельствовать об усиленном распаде белков и ухудшении выделительной функции почек. Наблюдается снижение уровня глюкозы на 26,34 %. Дефицит глюкозы может приводить не только к нарушению сурфактантной системы легких, но и способствовать развитию ателектаза. Концентрация триглицеридов не имеет достоверных отличий как у больных, так и у здоровых животных. Активность щелочной фосфатазы у больных телят выше на 94,08 %, что является одним из признаков нарушения кальций-фосфорного обмена. Уровень АсАТ выше на 71,4 %, а АлАТ – на 42,3 % в сравнении со здоровыми телятами. Так, если уровень АлАТ изменяется незначительно, а АсАТ растёт, это может говорить о повышенной нагрузке на сердце при физиологически нормальном функционировании печени.

Таблица 3 – Метаболизм у телят различного клинического состояния при респираторных инфекциях

Показатели	Больные телята	Клинически здоровые телята
Мочевина, мкмоль/л	5,17±0,72	4,12±0,23
Креатинин, мкмоль/л	96,37±2,04	75,61±4,73
Глюкоза, ммоль/л	3,69±0,17	5,01±0,29
Холестерин, ммоль/л	2,21±0,17	1,71±0,20
Триглицериды, ммоль/л	0,35±0,07	0,23±0,05
Билирубин общий, мкмоль/л	1,87±0,55	0,81±0,26
Щелочная фосфатаза, U/L	235,19±1,97	121,18±20,78
АсАТ, U/L	118,51±12,5	69,14±6,51
АлАТ, U/L	19,45±0,53	13,67±1,24
Кальций, ммоль/л	2,40±0,15	4,30±0,16
Фосфор, ммоль/л	4,40±0,19	2,50±0,17
Ca/P	1,65±0,04	2,48±0,09
Магний, ммоль/л	1,80±0,04	3,50±0,05

Полученные данные свидетельствуют о том, что угнетение иммунной системы при вирусных респираторных инфекциях приводит к поражению не только органов дыхания, но и других органов и систем, осложняя течение заболевания и вызывая сопутствующие осложнения. Ис-

пользование иммуностимулирующего препарата на основе наночастиц цинка может быть одним из перспективных решений данной проблемы.

Нами проведены исследования по изучению влияния препарата на основе наночастиц цинка при различной его кон-

центрации на активность и интенсивность фагоцитоза лейкоцитарных клеток крови (таблица 4).

Из таблицы 4 следует, что при введении наночастиц цинка в организм лабораторных животных происходят изменения в показателях, отражающих работу неспецифического клеточного иммунитета. Так, при

введении кроликам образца препарата в концентрации 50,0 мкг/мл отмечено увеличение фагоцитарного индекса с $2,74 \pm 0,4$ до $7,06 \pm 1,9$ ($P \geq 0,02$), что соответствует увеличению в 2,58 раза, тогда как при введении кроликам образца препарата № 2 фагоцитарный индекс увеличился с $3,09 \pm 1,3$ до $5,8 \pm 1,1$, т.е. в 1,88 раза ($P \leq 0,05$).

Таблица 4 – Фагоцитарная активность лейкоцитов у кроликов после введения образцов препарата на основе наночастиц цинка

Показатели фагоцитоза	Образец препарата в конц. 50,0 мкг/мл	Образец препарата в конц. 100,0 мкг/мл	КГ
	ОГ № 1	ОГ № 2	
Фагоцитарная активность до обработки, %	$70,20 \pm 9,40$	$68,40 \pm 4,80$	$64,40 \pm 4,40$
Фагоцитарная активность после обработки, %	$72,00 \pm 6,80$	$73,80 \pm 6,60$	$65,20 \pm 3,60$
Фагоцитарный индекс до обработки	$2,74 \pm 0,40$	$3,09 \pm 1,30$	$3,10 \pm 0,70$
Фагоцитарный индекс после обработки	$7,06 \pm 1,90^{**}$	$5,80 \pm 1,10^*$	$3,12 \pm 0,90$
Степень увеличения (уменьшения)	2,58	1,88	-

Примечание – $*P \leq 0,05$; $**P \geq 0,02$

Разница между показателями до и после введения образцов демонстрирует активизацию фагоцитарной активности лейкоцитов и фактически характеризует их иммуностимулирующую активность.

Далее иммуностимулирующее действие препарата оценивали по состоянию поствакцинального иммунитета морских свинок (таблица 5).

Таблица 5 – Исследования иммуностимулирующих свойств образцов препарата на основе наночастиц цинка

Группа животных	Наименование образца	Титр антител (\log_2)	
		до введения	на 21-й день после введения
ОГ № 1	образец препарата в конц. 50,0 мкг/мл + ИРТ	$1,00 \pm 0,12$	$5,25 \pm 1,30^{**}$
ОГ № 2	образец препарата в конц. 100,0 мкг/мл + ИРТ	$1,00 \pm 0,11$	$4,00 \pm 0,23^*$
ОГ № 3	физ. раствор + ИРТ	$1,00 \pm 0,46$	$3,25 \pm 0,18^*$
ОГ № 4	образец препарата в конц. 50,0 мкг/мл + ВД	$1,00 \pm 0,12$	$6,50 \pm 1,26^{**}$
ОГ № 5	образец препарата в конц. 100,0 мкг/мл + ВД	$2,25 \pm 0,23$	$5,25 \pm 0,18^{**}$
ОГ № 6	физ. раствор + ВД	$2,00 \pm 0,18$	$4,25 \pm 0,36^*$
КГ	-	$1,00 \pm 0,09$	$1,00 \pm 0,09$

Примечание – $*P \leq 0,01$; $**P \geq 0,001$

Приведенные в таблице 5 данные свидетельствуют о том, что одновременное введение образца препарата в концентрации 50,0 мкг/мл с вирусом ИРТ способствует увеличению титра антител на $4,25 \log_2$, а образца препарата в концентрации 100,0 мкг/мл – на $3,0 \log_2$. Совместное использование образца в концентрации 50,0 мкг/мл с вирусом ВД ведет к повышению титра антител на 5,5, тогда как образца в концентрации 100,0 мкг/мл – только на $4,25 \log_2$.

В контрольной группе титры оставались на прежнем уровне.

Таким образом, образец препарата в концентрации 50,0 мкг/мл обладает более выраженным иммуностимулирующим эффектом, чем образец препарата в концентрации 100,0 мкг/мл.

В таблицах 6 и 7 представлена динамика основных гематологических и биохимических показателей крови телят в ответ на введение препарата на основе наночастиц цинка.

Таблица 6 – Динамика гематологических показателей в крови телят до и после применения препарата

Наименование показателей	Исходные данные		Через 7 дней		Через 14 дней	
	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ
Лейкоциты, 10^9 /л	8,16	8,10	13,92	8,16	11,26	7,06
Эритроциты, 10^{12} /л	8,56	8,10	10,02	12,58	8,35	10,63
Гемоглобин, г/л	108,20	108,00	120,40	108,20	107,00	90,80
Тромбоциты, 10^9 /л	659,20	637,00	681,80	659,20	687,09	660,40
Гематокрит, %	37,38	37,00	38,66	37,38	36,62	36,20
СОЭ, мм/ч	2,76	3,35	3,90	3,76	1,10	3,10
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	8,62	8,30	9,20	8,62	15,46	13,10

Таблица 7 – Динамика биохимических показателей в крови телят до и после применения препарата

Наименование показателей	Исходные данные		Через 7 дней		Через 14 дней	
	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ
Общий белок, г/л	64,22	62,70	63,90	64,67	66,30	62,60
Альбумин, г/л	33,40	32,90	32,20	31,78	32,68	31,49
Глюкоза, ммоль/л	1,78	1,54	1,89	1,71	1,94	1,76
Холестерин, ммоль/л	1,72	1,72	1,72	1,38	1,80	1,42
Мочевина, мкмоль/л	5,99	5,40	5,00	5,20	3,60	4,30
Биллирубин, мкмоль/л	5,60	5,86	5,93	4,43	6,99	5,63
Креатинин, мкмоль/л	68,87	68,87	68,87	71,37	77,06	64,67
Триглицериды, мкмоль/л	0,18	0,26	0,23	1,55	0,24	1,47
АлАТ, U/L	31,79	28,10	32,56	21,88	32,78	25,90
АсАТ, U/L	76,03	80,70	77,90	86,32	79,61	91,84
Щелочная фосфатаза, U/L	91,30	91,80	92,80	92,75	96,12	89,96
Кальций, ммоль/л	2,45	2,78	2,65	2,34	2,93	2,83
Фосфор, ммоль/л	2,06	2,04	1,96	1,60	2,12	2,58
Магний, ммоль/л	1,20	1,40	1,44	1,49	1,66	1,26
Железо, ммоль/л	28,56	28,56	27,16	26,08	25,82	24,53

Введение телятам препарата в дозе 5,0 мл внутримышечно 1 раз в день в течение 3 дней подряд способствует достоверному увеличению количества лейкоцитов к 7-му дню с 8,16 до $13,92 \times 10^9$ /л, эритроцитов – с 8,52 до $10,02 \times 10^{12}$ /л, гемоглобина – с 108,2 до 120,4 г/л, концентрации кальция – с 2,45 до 2,61 ммоль/л, магния – с 1,20 до 1,69 ммоль/л, общего белка на 14-й день – с 62,6 до 66,3 г/л, а остальные показатели обменных процессов были на уровне контрольных животных. Таким образом, применение препарата на основе наночастиц цинка способствует стабилизации гематологических и биохимических показателей у телят до уровня физиологической нормы без негативного влияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования установили ведущую роль вирусов в этиологии респираторных болезней телят и их существенное влияние на физиологический и иммунологический статус животных. Отмечается уменьшение количества Т- и

В-лимфоцитов, снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови. В результате полученных данных установлено, что введение наночастиц цинка в концентрации 50,0 мкг/мл способствует активизации фагоцитарного индекса, что показывает иммуностимулирующий эффект препарата, а одновременное введение с вирусом способствует повышению уровня антителообразования у иммунизированных животных.

Таким образом, схема трехкратного внутримышечного введения телятам препарата в дозе 5,0 см³ в концентрации цинка 50,0 мкг/мл в течение 3 дней не оказывает негативного влияния на гематологические и биохимические показатели животных. Его применение в комплексной терапии при вирусных респираторных инфекциях способствует стабилизации показателей обмена веществ и маркерных ферментов, а также нормализации последствий инфекционного процесса в организме телят.

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Петрова, О. Г. Обоснование тактических особенностей профилактики ОРВИ крупного рогатого скота при промышленных технологиях содержания / О. Г. Петрова, М. И. Барашкин // *Аграрный вестник Урала*. – 2014. – № 11. – С. 32–36.
2. Алексеев, А. Д. Особенности проявления острых респираторных вирусных инфекций крупного рогатого скота в современных условиях / А. Д. Алексеев, О. Г. Петрова, Л. И. Дроздова // *Аграрный вестник Урала*. – 2015. – № 6. – С. 38–40.
3. Общая и специфическая профилактика инфекционных болезней молодняка свиней / Б. Л. Белкин, Н. А. Малахова, В. Ю. Комаров [и др.] // *Вестник аграрной науки*. – 2019. – № 1. – С. 58–62.
4. Высокодисперсные порошки металлов – источники микроэлементов для сельскохозяйственной птицы / И. А. Егоров, В. П. Куренева, Н. Н. Глуценко [и др.] // *Сб. науч. тр. / Всесоюз. акад. с.-х. наук, Всесоюз. науч.-исслед. ин-т физиологии, биохимии и питания с.-х. животных*. – Боровск, 1985. – Т. 31 : Физиолого-биохимические основы повышения продуктивности сельскохозяйственной птицы. – С. 80–88.
5. Болезни сельскохозяйственных животных / П. А. Красочко, М. В. Якубовский, А. И. Ятусевич [и др.] ; науч. ред. П. А. Красочко. – Минск : Бизнесофсет, 2005. – 798 с.
6. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко [и др.] ; под общ. ред. И. П. Кондрахина. – М. : Колос, 2004. – 519 с.
7. Бухарин, О. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О. В. Бухарин, Н. В. Васильев. – Томск : Изд-во Томского университета, 1974. – 209 с.
8. Смирнова, О. В. Определение бактерицидной активности сыворотки методом нефелометрии / О. В. Смирнова, Т. А. Кузьмина // *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии*. – 1966. – Т. 43, № 4. – С. 8–11.